

Paris 1971

FACULTÉ DE MÉDECINE – PITIÉ – SALPÊTRIÈRE

Année 1971

N°

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

par

Annick GERAUX

née le 16 septembre 1945 à Paris

66

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION DE L'HISTOLOGIE A LA MISE EN ÉVIDENCE
DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE
CAS DE LA FUSAFUNGINE ET DES VOIES AÉROPHORES

Président : Monsieur J. RACADOT, Professeur

Année 1971

N°

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

par

Annick GERAUX

née le 16 septembre 1945 à Paris

Présentée et soutenue publiquement le :

CONTRIBUTION DE L'HISTOLOGIE A LA MISE EN ÉVIDENCE
DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE
CAS DE LA FUSAFUNGINE ET DES VOIES AÉROPHORES

Président : Monsieur J. RACADOT, Professeur



A mes Parents

*Vous avez toujours été pour moi l'exemple
du courage et mon meilleur réconfort.
Je vous dédie cette thèse en témoignage de
toute mon affection.*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A Monsieur le Professeur J. RACADOT

*Vous avez bien voulu me faire l'honneur
d'accepter la présidence de cette thèse.
Veuillez trouver ici le témoignage de mon
profond respect et de ma gratitude pour
l'accueil que vous m'avez toujours réservé.*

A Monsieur le Docteur R. du BOISTESSELIN

*Vous m'avez inspiré le sujet de cette thèse,
conseillée et aidée dans sa réalisation.
Soyez assuré de ma vive reconnaissance.*

A ses collaboratrices

Aux Laboratoires SERVIER

*Qui m'ont permis de réaliser cette thèse en
m'accueillant dans leurs laboratoires et en
m'aidant dans mes travaux.
Avec tous mes remerciements.*

A mes Maîtres de la Faculté de Lille

Monsieur le Professeur WAREMBOURG

Monsieur le Professeur LAINE

Monsieur le Professeur PARIS

A la mémoire de Monsieur le Professeur A. VERHAEGHE

A mes Maîtres de la Faculté de Paris

Monsieur le Professeur LAFOURCADE

*A la mémoire de Madame le Professeur DELAHAYE-
PLOUVIER.*

**CONTRIBUTION DE L'HISTOLOGIE A LA MISE EN ÉVIDENCE
DE L'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE
CAS DE LA FUSAFUNGINE ET DES VOIES AÉROPHORES**

PLAN GÉNÉRAL

	Pages
INTRODUCTION	10
I. TESTS HISTOLOGIQUES CLASSIQUES DES ANTI-INFLAMMATOIRES	
1) Classification des différents tests.....	11
2) Description de ces tests	11
II. PROBLÈME DE LA VALIDITÉ DES AUTRES TESTS : EXEMPLE DE LA FUSAFUNGINE.	
1) Propriétés de la fusafungine	14
2) Tests d'activité anti-inflammatoire effectués.....	14
3) Conclusion et discussion de ces méthodes.....	17
III. RECHERCHES PERSONNELLES	
1) Point de départ :	
Observation histopathologique des organes provenant des animaux traités par la fusafungine.....	18
2) Hypothèse de travail	19

3) Expérimentation personnelle	19
a) Choix d'un test de référence	
b) Mise au point de sa technique :	
— choix de l'aérosol toxique	
— conditions d'expérience :	
● animaux	
● matériel	
— Protocole d'expérience :	
● détermination du temps d'exposition	
● détermination du temps de sacrifice	
● définition de l'animal de référence	
c) Effet curatif :	21
— conditions d'expérience	
— protocole d'expérience	
— préparation histologique	
— résultats et photos	
— conclusion	
d) Effet préventif :	31
— conditions d'expérience	
— protocole d'expérience	
— résultats et photos	
— conclusion	
e) Conclusion sur l'activité anti-inflammatoire de la fusafungine	33

IV. CONCLUSION	34
-----------------------------	-----------

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Nous nous proposons dans le présent travail, de montrer la part importante que peut prendre l'examen histologique dans la mise en évidence d'une activité anti-inflammatoire. Nous avons pris comme exemple la fusafungine, qui fut longtemps connue pour être un antibiotique des voies respiratoires original par son mode d'administration local.

En effet, si dans un premier temps, certains pharmacologues avaient mentionné une discrète activité anti-inflammatoire, celle-ci demeurait cependant très négligeable d'après les tests effectués. Dans un deuxième temps, les thérapeutes ayant coutume de prescrire cet antibiotique ont constaté que cette action loin d'être négligeable diminuait considérablement les zones d'œdème et de congestion respiratoires.

Devant cette discordance entre la pharmacologie et la clinique, nous avons décidé de repenser le problème en nous aidant cette fois de l'histologie. Dans ces conditions, nous testerons l'activité anti-inflammatoire de la fusafungine des points de vue préventif et curatif après inflammation créée expérimentalement chez l'animal.

I — TESTS HISTOLOGIQUES CLASSIQUES DES ANTI-INFLAMMATOIRES

1 — CLASSIFICATION DES DIFFÉRENTS TESTS

Qu'est-ce qu'un test d'activité anti-inflammatoire ? D'une manière générale toutes les méthodes sont basées sur le même principe : créer une inflammation standardisée, reproductible et comparer cette lésion étalon avec d'autres du même type mais traitées par les divers produits à étudier.

Nous pouvons classer ces méthodes en trois catégories :

- celles utilisant une irritation cutanée,
- celles utilisant une irritation chimique du conjonctif,
- celles créant une inflammation purement mécanique.

2 — DESCRIPTION DE CES TESTS

Les tests utilisant une irritation cutanée provoquée par différentes substances sont de mauvais modèles d'inflammation. Ils s'adressent à des stades trop précoces, à une composante purement vasculaire et à des irritants spéciaux. De plus, il faut souligner le rôle essentiel de l'histamine au niveau de la peau.

Beaucoup plus proches de la réalité clinique se placent les tests par irritation chimique du conjonctif. Qu'entend-on par là ? Il s'agit en fait de l'introduction d'une substance irritante dans l'organisme par injection ou dépôt en tout autre endroit que la peau.

Nous ne retiendrons que trois tests pour exemples :

Tests à l'ovalbumine ou au Dextran. Pour ce test deux méthodes possibles :

a) Par injection intra-péritonéale

(HALPERN, BRIOT * 14)

En injectant dans le péritoine du rat de l'ovalbumine et du chlorazol « blue sky », on voit apparaître au niveau du scrotum, des pattes et de l'extrémité céphalique un œdème anaphylactoïde coloré.

On mesure à la fois l'étendue de la zone œdématisée et le délai d'apparition du phénomène.

(La même expérience peut être réalisée avec le Dextran et on obtient les mêmes résultats).

Il est bien évident que dans cette méthode la composante dominante est donnée par la libération d'histamine et de sérotonine donc que les anti-histaminiques restent très actifs ; mais par ailleurs les corticoïdes commencent à prendre ici la place prépondérante.

b) Par dépôt sur le mésentère d'un lapin sensibilisé

(LECOMTE et HUGUES)

Après avoir sensibilisé un lapin à l'ovalbumine on extériorise son mésentère, et on ajoute cette protéine au liquide de lavage de la préparation.

Par observation in vivo, au microscope, on assiste à une réaction anaphylactique caractérisée par des thromboses des veinules et des hémorragies périvasculaires.

Cette méthode, bien que très particulière puisque anaphylactique ne montre plus d'activité pour les anti-histaminiques, mais met en évidence l'importance protectrice des corticoïdes.

Test dit de la poche granulomateuse

(SELYE, HORAVA, 22 *)

On utilise des rats des deux sexes dont le poids varie entre 120 et 140 g et auxquels on injecte sous la peau du dos 25 ml d'air. Puis dans la poche ainsi formée, 1 ml d'une solution à 1 % d'huile de croton dans l'huile d'olive. Il apparaît alors à l'intérieur du nodule un processus inflammatoire aigu qui atteint son point culminant lorsqu'il n'est pas traité, 6 jours après l'injection.

L'appréciation du pouvoir antiphlogistique d'un médicament se fait en comparant avec les témoins non traités :

- l'épaisseur de la coque formant la paroi de la poche,
- la quantité d'exsudat contenue dans cette poche.

Elle est généralement de l'ordre de quelques millilitres.

Mais plus intéressant est l'examen histologique qui permet de se faire une opinion qualitative car on peut apprécier le degré d'infiltration leucocytaire, d'angiogénèse et de sclérose.

Il pourrait s'agir là d'une méthode très valable car reproduisant d'assez près la réalité pathologique, si elle ne créait des lésions d'une trop grande gravité.

Ce test est en général utilisé pour la comparaison des activités anti-inflammatoires des stéroïdes.

Test à l'essence de térébenthine

(TAUBENHAUS, AMROMIN)

C'est un test purement histologique. Dès 1949, c'est à TAUBENHAUS et AMROMIN que nous devons l'étude de l'abcès formé par l'injection sous cutanée d'essence térébenthique chez le cobaye. Ils essayèrent divers traitements hormonaux et tirèrent de leurs examens des conclusions histologiques et histochimiques, ainsi la précarité de la prolifération fibroblastique, la pauvreté fibrillaire, la baisse du taux des mucopolysaccharides sont les caractéristiques de l'action de la cortisone.

D'autres auteurs ont étendu cette technique à d'autres substances hormonales. Les résultats en sont toujours très fidèles.

On a beaucoup reproché à ces méthodes, que nous venons de décrire, de nécessiter l'introduction d'une substance déclenchant l'inflammation. Elle pourrait être capable de modifier la réponse ou tout au moins de créer des lésions trop spécifiques. C'est pourquoi une tendance s'est créée préconisant l'emploi de corps inertes qui par action mécanique provoqueraient l'inflammation.

Test par irritation mécanique :

Méthode de numération des cellules infiltrant un implant d'Ivalon

(COSTE, DELBARRE, BASSET, 1955 * 7)

On implante sous la peau de la région lombaire du rat des pellets d'Ivalon stérilis. Ces pellets ont été préalablement imprégnés de la solution du produit à étudier. Vingt-quatre heures après, le pellet est retiré et sectionné en deux :

- une moitié est imprégnée avec 0,3 ml de sérum physiologique et centrifugée dans un tube spécial. On compte ensuite à l'aide d'une cellule de Nageotte les cellules recueillies dans le fond du tube ;
- l'autre moitié sert à faire des empreintes qui après coloration au May-Grünwald-Giemsa sont utilisées pour établir le pourcentage des cellules rencontrées.

Ce test renseigne sur :

- l'afflux leucocytaire à la 24ème heure,
- le degré d'inhibition de la prolifération des cellules conjonctives.

Cette méthode ne donne en réalité de réponse valable qu'avec les corticoïdes.

II – PROBLEME DE LA VALIDITÉ DES AUTRES TESTS : A PROPOS DE LA FUSAFUNGINE.

Il apparaît donc qu'il existe une grande variété de méthodes pour tester l'activité anti-inflammatoire d'un produit donné. Nous nous proposons de faire la part exacte de l'examen histologique dans la mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire d'une préparation à base de fusafungine.

1 – Mais auparavant, nous rappellerons brièvement les **propriétés de la fusafungine** : (* 23, 6, 10, 16, 17)

La fusafungine est un antibiotique d'origine fongique produit par la croissance de *Fusarium Lateritium* WI.

Il s'agit d'un corps cristallisé blanchâtre de faible odeur et de goût amer. Insoluble dans l'eau, il est soluble dans les alcools et les glycols. Douée d'une grande stabilité, la fusafungine est stérilisable par la chaleur. Elle se conserve à l'état sec ou en solution huileuse.

Nous avons utilisé pour notre expérimentation une préparation huileuse à base de fusafungine dite « 314.S. ».

Nous avons dit que dans un premier temps certains tests d'activité avaient été réalisés par des pharmacologues. Voyons maintenant quels furent ces tests, leurs résultats et quelles interprétations on en peut faire.

2 – TESTS D'ACTIVITÉ ANTI-INFLAMMATOIRE EFFECTUÉS :

a) – **Etude sur le poumon de la souris**
(Dr. T. BALEA * 3, 15, 12, 13)

Conditions d'expérience :

- **Animaux** : 20 souris de race Swiss pesant 24 g environ.
- **Protocole d'expérience** : Ces souris reçoivent par voie intra-nasale 0,1 ml d'endotoxine, préparée d'après la méthode de A. BOVIN et Coll. (* 4) qui va provoquer une inflammation sur le poumon de la souris.

Dans un deuxième temps les animaux sont répartis en deux lots :

- Le premier lot : sert de témoin et ne subit aucun traitement.
- Le deuxième lot est placé sous une cloche à aérosol « 314.S. » une heure matin, midi et soir pendant 3 jours.

Enfin, une heure après le dernier aérosol toutes les souris sont sacrifiées par décapitation, le poumon prélevé en entier pour être pesé.

Résultats : L'instillation d'endotoxine provoque une forte inflammation du poumon qui se traduit par une augmentation sensible du poids de l'organe. Cette action est inhibée par les produits doués de propriétés anti-inflammatoires.

- **1er lot témoin.** Résultats obtenus : 248, 215, 281, 274, 219, 272, 238, 293, 234, 286.

Moyenne : 267

- **2ème lot traité.** Résultats : 230, 187, 193, 253, 231, 272, 218, 260, 182, 254.

Moyenne : 228

- **3ème souris normales.** Résultats : 210, 184, 177, 214, 206, 212, 184.

Moyenne : 193

Interprétation : On peut établir d'après cette expérimentation que le poumon de la souris subit une augmentation pondérale de 33 % par rapport aux souris normales.

Par contre, le lot d'animaux traités présente un poumon dont le poids est inférieur à 14,7 % à celui des témoins endotoxine, mais demeure toutefois supérieur de 18 % par rapport aux souris normales. On va conclure qu'il existe une discrète activité anti-inflammatoire, mais il demeure difficile d'en apprécier exactement la valeur.

Deux nouvelles études réalisées par le Professeur H. SCHMITT (* 21) ont permis de vérifier l'activité anti-inflammatoire de la fusafungine et ses limites.

- b) — **Etude réalisée sur l'œdème plantaire** de la patte du rat, provoqué par l'injection de formol inflammatoire.

Protocole d'expérience : On choisit un certain nombre de rats que l'on divise en deux lots.

Tous subissent une injection sous-cutanée de 0,1 cm³ de formol à 4 %. Le volume de la patte est mesuré pléthysmographiquement, par la méthode de BUTTLE et Coll. Tous les 1/4 heure pendant deux heures.

Dans un second temps, le deuxième lot reçoit en solution huileuse 50 mg/kg de fusafungine intra péritonéale.

On répète l'expérience avec :

100 mg/kg par voie intra péritonéale,

100mg /kg par voie orale,

500 mg/kg par voie orale d'acide acétyl salicylique,

5 mg/kg par voie orale d'hydrocortisone.

Résultats :

	Nombre de rats	Augmentation du volume de la patte	Déviation	Inhibition
– Témoins	10	311	5	–
– 50 mg/kg IP	10	226	18	27 %
– Témoins	10	318	5	–
– 100 mg/kg IP	10	177	12	43 %
– Témoins	10	318	8	–
– 100 mg/kg Po	10	237	14	25 %
A – A – Sali –				
– 500 mg/kg Po	10	240	34	35 %
– Témoins	10	373	21	–
Hydrocorti- sone				
– 5 mg/kg Po	10	173	44	53 %

Interprétation : Avec une dose de 50 mg/kg de fusafungine intra péritonéale, l'œdème provoqué par l'injection sous aponévrotique de formol est relativement inhibé (27 %). (43 % avec une dose de 100 mg/kg) intra péritonéale).

Toutefois, si l'activité anti-inflammatoire est supérieure à celle de l'acide acétyl salicylique, elle n'en demeure pas moins nettement inférieure à celle de l'hydrocortisone.

c) – La deuxième expérimentation du Professeur H. SCHMITT a été réalisée sur le **granulome inflammatoire du rat** selon la technique de MEIER, SCHULER et DESAULLES (* 18).

Conditions d'expérience :

On utilise 25 rats albinos de 100 à 120 g que l'on divise en 5 lots.

Protocole d'expérience :

On introduit, par une incision au niveau du dos, deux tampons de coton de 6 mg. La plaie est refermée par une agrafe.

Le premier et le quatrième lot sont sacrifiés 4 jours après. Les granulomes sont disséqués, pesés, puis séchés à l'étuve à 80° pendant 12 heures.

Les autres lots sont traités deux fois par jour après intubation. Le deuxième lot reçoit 60 mg/kg de fusafungine en solution dans l'huile d'olive directement dans l'estomac.

Le troisième lot reçoit 200 mg/kg Po.

Le cinquième lot reçoit 2,5 mg/kg de cortisone.

Résultats :

	Nbre de rats	Nbre de granulomes	Poids de granulomes frais en mg	Poids de granulome sec en mg	Inhibition
Témoins	5	10	218 ± 17	40,5 ± 3	—
Fusafungine 50 mg/kg Po	5	10	222 ± 15	39,6 ± 39	0
Fusafungine 200 mg/kg Po	5	10	178,5 ± 12	32,5 ± 2,1	0
Témoins	5	10	179 ± 8,8	35,8 ± 23	—
Cortisone 2,5 mg/kg	5	10	140 ± 8	28 ± 1,9	21 %

Interprétation : D'après ce test la fusafungine est insuffisamment active pour influencer le développement du granulome inflammatoire du rat, alors que l'anti-inflammatoire de référence entraîne une inhibition de 25 %.

3 — CONCLUSIONS ET DISCUSSION DE CES MÉTHODES

En conclusion, on peut dire que la fusafungine exerce une discrète activité anti-inflammatoire sur le poumon de la souris, sur l'œdème plantaire de la patte de rat provoqué par l'injection de formol. Celle-ci demeurant cependant nettement inférieure à celle de la cortisone. Enfin, elle est nettement insuffisante pour influencer le développement du granulome inflammatoire du dos du rat.

Après ces différents tests quantitatifs, il est difficile de se faire une idée exacte de l'activité anti-inflammatoire du produit en question. Or, notre problème est de savoir si ce que les cliniciens (* 1, 2, 11, 20, 21) ont observé au niveau des voies respiratoires correspond à quelque chose de réel et, éventuellement confirmer par des preuves patentes le fait que la fusafungine peut être utilisée comme anti-inflammatoire des voies respiratoires. Or, ces derniers tests ne nous permettent pas une telle affirmation et nous avons cherché à démontrer cette activité d'une manière plus fine.

III — RECHERCHES PERSONNELLES

1 — POINT DE DÉPART

Le point de départ nous a été donné par un fait d'observation histopathologique des animaux traités par le « 314.S. » à base de fusafungine. (R. du BOISTESSELIN * 9).

Matériel d'étude :

- 20 cobayes mâmes séparés en deux lots
- le premier lot de 5 témoins
- le deuxième lot de 15 cobayes devant recevoir de la fusafungine.

Appareil :

Une cloche de verre de contenance = 20 litres reposant sur une lourde plaque de verre rodé le col obturé par un bouchon permettant le passage du tuyau arrivant à la source génératrice d'aérosol. (Un petit ventilateur électrique permettant de disperser le brouillard médicamenteux.

Technique :

Le cobaye est introduit dans la cloche et il y reste 15 minutes. Ensuite, l'animal est libéré, la cloche est nettoyé, bien aérée avant de passer au cobaye suivant.

On répète l'expérience tous les jours pendant 20 jours.

Le vingtième jour, tous les cobayes sont sacrifiés, le poumon avec sa trachée est prélevé, fixé, inclus dans la paraffine coupé et enfin coloré.

Résultats :

Trachée : aspect identique dans les deux lots,
l'épithélium a conservé sa ciliature intacte,
les glandes trachéales ne montrent aucune anomalie.

Bronches : Epithéliums et glandes montrent une intégrité parfaite après les nombreuses séances d'aérosol.

Poumons : Aspects cette fois différents chez les témoins et chez les animaux traités.

● Chez les témoins :

Le parenchyme pulmonaire est le siège de nombreux nodules inflammatoires notamment dans les régions péri-bronchiques. Ces micro-abcès sont en effet fréquents chez les animaux de laboratoire (surtout chez le cobaye dit « conventionnel »).

● Chez les animaux traités :

On observe une disparition totale de ces nodules inflammatoires qui n'ont été retrouvés chez aucun des 15 animaux traités par la fusafungine.

En conclusion :

L'examen histologique vient donc confirmer le fait que la fusafungine semble allier une activité anti-inflammatoire à son pouvoir antibiotique puisqu'elle entraîne la disparition totale des images inflammatoires dues à l'infection épizootique.

2 — HYPOTHESE DE TRAVAIL

Encouragée par ces résultats, nous avons pensé que, si nous trouvions un moyen de provoquer une inflammation expérimentale non infectieuse chez le cobaye, nous pourrions tester l'activité de la fusafungine. Il suffirait de comparer les coupes histologiques de l'appareil respiratoire d'animaux témoins et d'animaux ayant reçu de la fusafungine.

Telle est la nouvelle expérimentation que nous avons réalisée.

3 — EXPÉRIMENTATION PERSONNELLE

a) Choix d'un test de référence

Dans un premier temps, il nous a fallu créer expérimentalement une inflammation de référence au niveau des voies respiratoires des cobayes. D'après la classification des différents tests que nous avons établie au début de cette étude, une seule méthode était possible : l'irritation chimique du tissu conjonctif.

Le choix de l'appareil respiratoire impliquait l'utilisation d'un aérosol irritant pour créer des lésions non infectieuses.

b) Mise au point de sa technique

Choix de l'aérosol : Après avoir éliminé la possibilité de faire un aérosol d'acide citrique, trop peu irritant pour créer une inflammation histologiquement décelable, nous avons choisi de pratiquer un aérosol toxique d'Acroléïne.

Conditions d'expérience

● les animaux

Nous avons utilisé des cobayes tricolores pesant environ 300 g, tous de sexe féminin.

● le matériel

Une boîte à aérosol étanche à 7 sorties reliées :
à un manodétenteur à double détente
à une bouteille d'air comprimé
à un appareil aérosol.

Protocole d'expérience :

— Détermination du temps d'exposition

D'après le principe des travaux de WINTER et FLATAKER (1954) (* 24), nous avons donc exposé nos cobayes à un aérosol d'Acroléïne.

Au début de l'expérimentation, nous nous sommes mis dans les conditions de WINTER et FLATAKER, c'est-à-dire, que nous avons utilisé une solution d'Acroléine dans de l'eau à :

$$[c] = 0,025 \%$$

pendant un temps :

$$t = 10 \text{ minutes}$$

Après le dernier aérosol, tous les cobayes furent sacrifiés. L'appareil respiratoire prélevé en entier, fixé pendant 48 h. dans le Bouin, inclus dans la paraffine, coupé, coloré.

Les résultats histologiques furent décevants : nous avons donc décidé d'augmenter le temps d'exposition à :

$$t = 15 \text{ minutes}$$

Après la préparation histologique, nous n'avons constaté que quelques rares zones d'œdème de la muqueuse sans congestion, ni mobilisation leucocytaire.

A la suite de ces expériences infructueuses, nous avons décidé en gardant les mêmes constantes, soit :

$$[c] = 0,025 \%$$

$$t = 15 \text{ minutes}$$

de déterminer un temps de latence entre le temps d'exposition aux aérosols et le temps de sacrifice afin de permettre l'évolution du processus histopathologique.

— Détermination du temps de sacrifice

Nous avons déterminé ce temps en prenant six cobayes séparés en 3 lots de deux animaux.

le lot n° 1 — sacrifié au bout d'1/2 h.

le lot n° 2 — sacrifié au bout d'1 h.

le lot n° 3 — sacrifié au bout de 2 h.

Résultats :

- lot n° 1 : trachée histologiquement normale, poumon, aucun processus inflammatoire.
- lot n° 2 : discrète infiltration au niveau de la bifurcation trachéale avec un début de congestion.
- lot n° 3 : Œdème intra-trachéale important, Congestion importante (sang dans la bifurcation), Infiltrat inflammatoire.

D'après ces résultats, nous pouvons établir qu'il faut attendre au moins deux heures après l'aérosol toxique d'Acroléine, pour obtenir une inflammation typique histologiquement décelable.

— Définition de l'animal de référence

L'animal de référence est un cobaye pesant environ 300 g., soumis à un aérosol d'Acroléine, à une concentration $[c] = 0,025 \%$, pendant un temps $t = 15$ minutes, et sacrifié par une injection intra-péritonéale de 1 ml. de Nembutal, deux heures après l'aérosol.

c) Effets curatif :

Dans un second temps, nous avons traité les animaux de référence par un aérosol de fusafungine.

Conditions d'expérience

- aérosol : « 314.S. » principe actif fusafungine
- matériel : même appareillage que pour aérosol d'Acroléine
- temps d'exposition : $t = 15$ minutes
- animaux : cobayes.

Protocole d'expérience

Nous avons réparti 12 cobayes en 3 lots de 4 animaux :

1er lot A : Témoins purs ne reçoivent ni Acroléine, ni fusafungine.

le lot B : Animaux de référence : ont subi un aérosol d'Acroléine, mais ne sont pas traités par la fusafungine.

le lot C : Animaux ayant reçu les aérosols toxiques d'Acroléine et les aérosols « 314.S. » à la fusafungine.

Deux heures après le dernier aérosol, tous les cobayes furent sacrifiés, disséqués, l'appareil respiratoire prélevé en entier de manière à étudier l'histologie à trois niveaux différents :

- trachée haute (coupe transversale)
- bifurcation trachéale (coupe horizontale)
- parenchyme pulmonaire

Préparation histologique

L'appareil respiratoire prélevé est fixé dans le Bouin pendant 24 heures.

Les préparations anatomiques sont disséquées, puis fixées à nouveau pendant 24 h. dans le Bouin.

Elles sont ensuite rincées à l'Alcool avant d'être incluses dans la paraffine. Coupées à $5\ \mu$, elles sont colorées par deux méthodes :

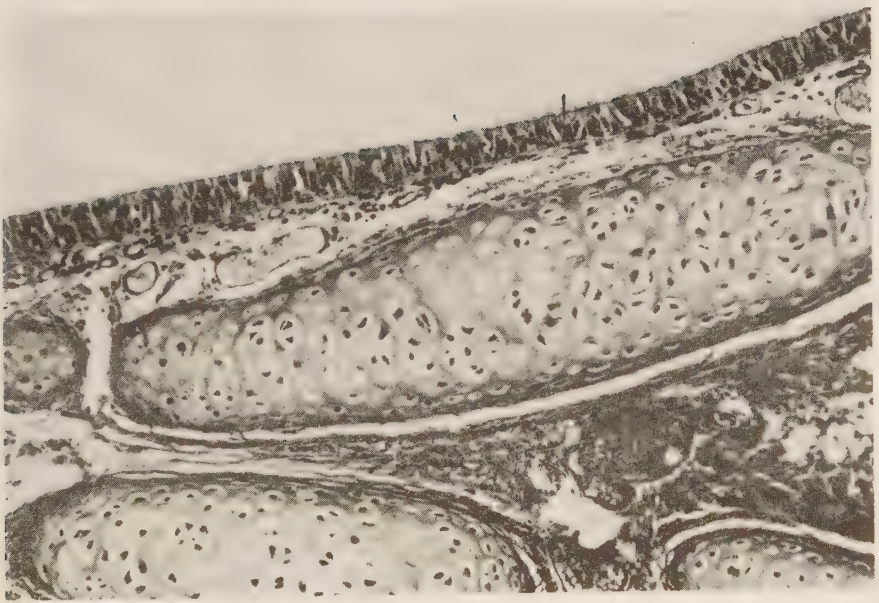
1) **Hémalun-éosine**

2) **Trichrome de Masson**

Résultats

Lot A : Témoins purs

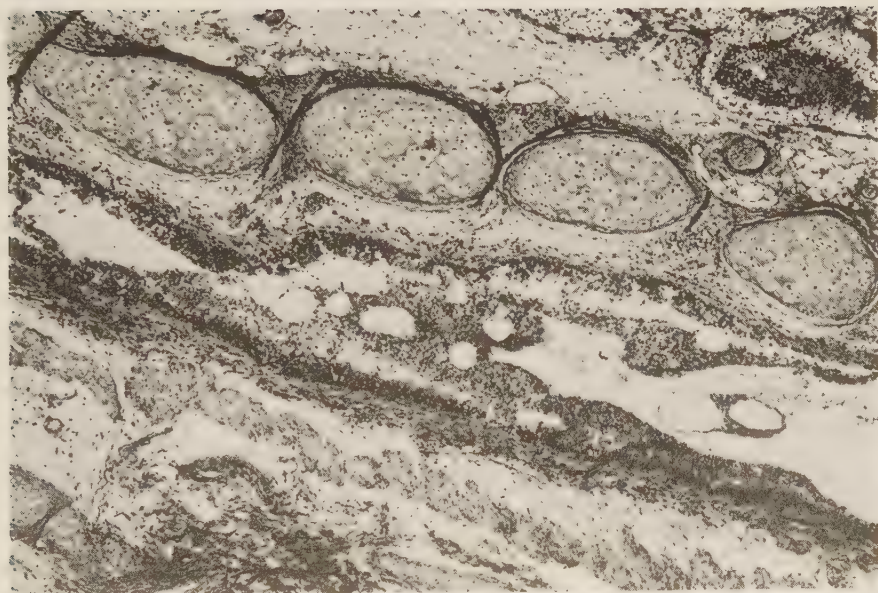
n'ont reçu ni Acroléïne, ni fusafungine



Coupe longitudinale de trachée (grossissement moyen)
Aspect normal. L'épithélium a gardé sa ciliature intacte
Le conjonctif n'est ni congestif, ni infiltré.

Lot B : Animaux de référence
n'ont reçu qu'un aérosol d'Acroléine

Fig. n° 1



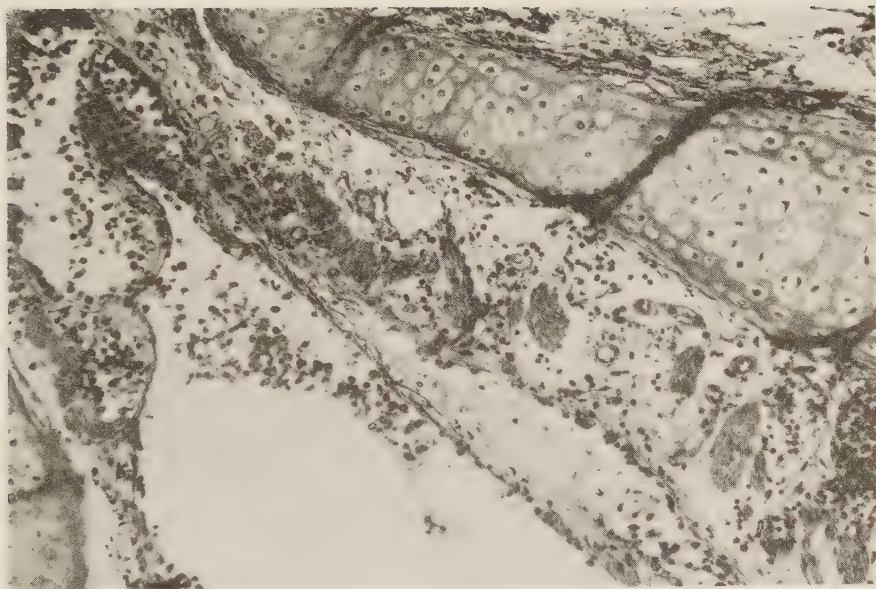
Coupe en long de la trachée peu avant la bifurcation (faible grossissement).

La lumière est occupée par un volumineux amas de mucus contenant de très nombreuses cellules inflammatoires.

L'épithélium est également fortement infiltré et présente sur cette image un aspect sombre caractéristique.

Le chorion est également infiltré dans sa partie sous-épithéliale tandis qu'il est œdématié, fin et dissocié, dans sa portion en rapport avec le péri-chondre.

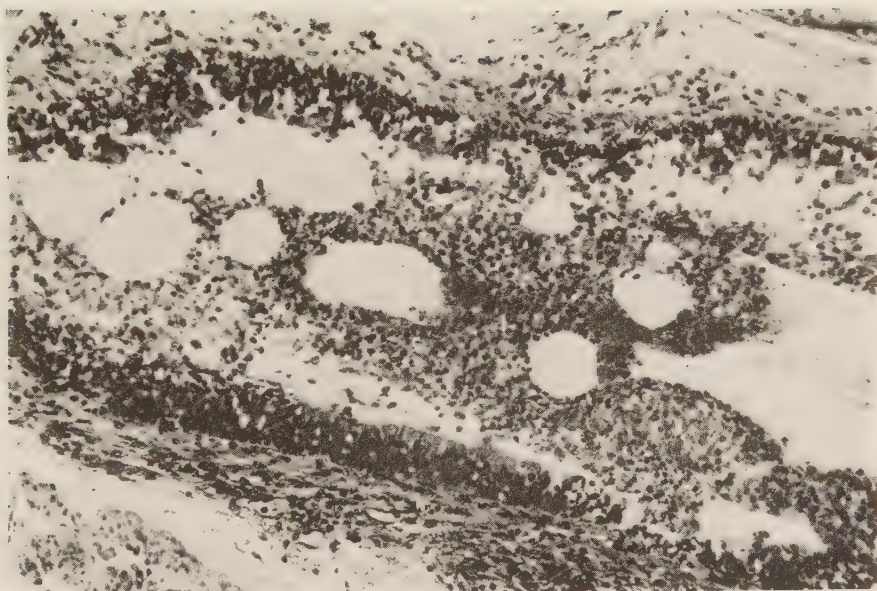
Fig. n° 2



Niveau de l'éperon trachéal (grossissement moyen).

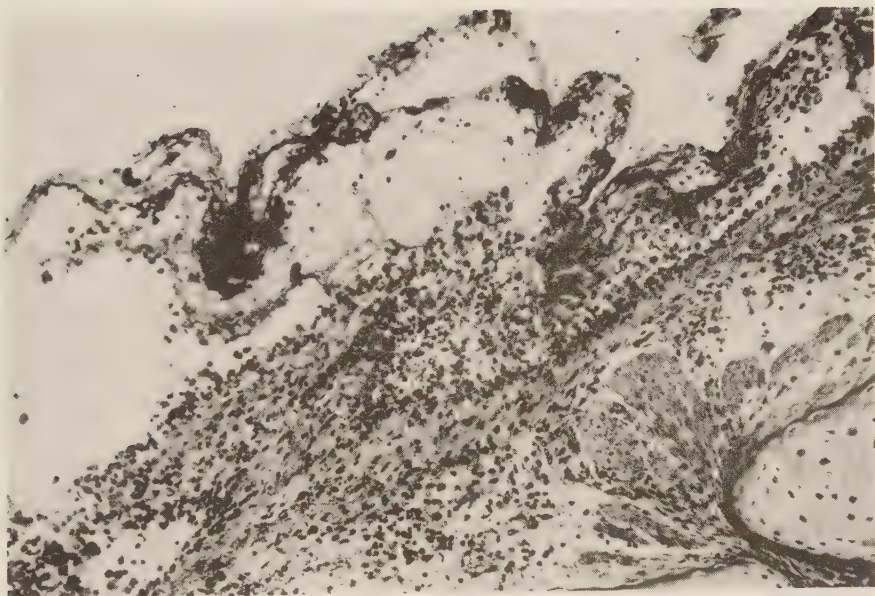
Dans la partie gauche, on distingue un bouchon muqueux avec son infiltrat leucocytaire. Le mucus est ici en rapport avec la lame basale car l'épithélium a complètement disparu. On en retrouve des débris dans l'amas muqueux tandis que quelques cellules persistent dans la partie supérieure gauche.

L'infiltrat inflammatoire du chorion reste en général assez discret, alors que la congestion et l'œdème très importants dissocient finement les fibres de collagène.



Région de la bifurcation trachéale (grossissement moyen), montrant le bouchon muqueux, son infiltrat leucocytaire et diverses étapes de l'atteinte épithéliale.

- 1) en bas : l'épithélium quoique infiltré, demeure intact.
- 2) en bas à gauche : l'infiltration s'accroît et les leucocytes passent dans la lumière en dissociant les cellules épithéliales.
- 3) en haut à gauche : les cellules desquament.
- 4) en haut à droite : il ne persiste que des débris épithéliaux, la lame basale sera bientôt à nu.



Réponse inflammatoire sévère au processus irritant.

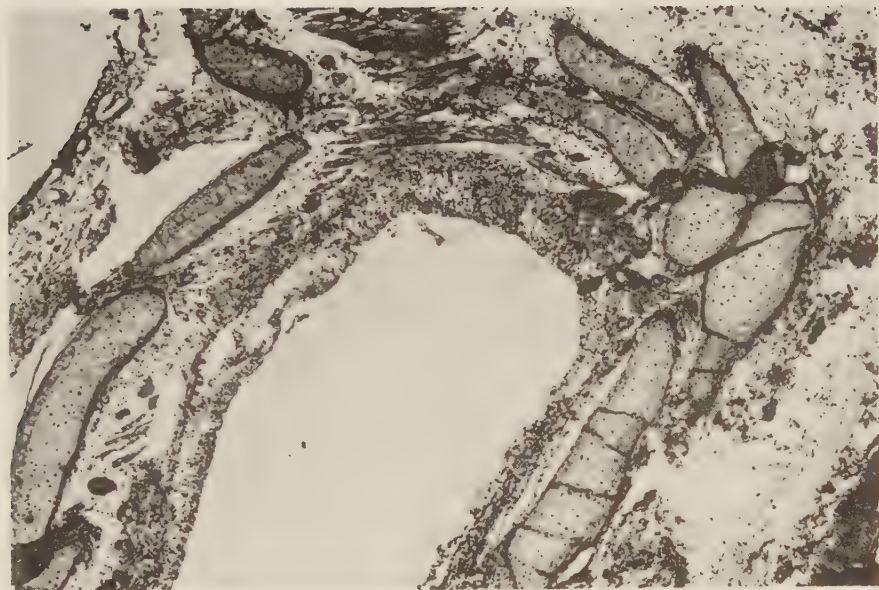
L'infiltration leucocytaire a entièrement détruit l'épithélium dont on retrouve des débris dans le bouchon muqueux.

Cette infiltration gagne le chorion en profondeur. Il devient congestif et fortement œdémateux dans sa zone profonde au contact du périchondre.

En conclusion, lésion grave, avec mise à nu du tissu conjonctif.

Lot C : Animaux traités, ayant reçu :

- 1) aérosol toxique acroléine
- 2) aérosol curatif de fusafungine

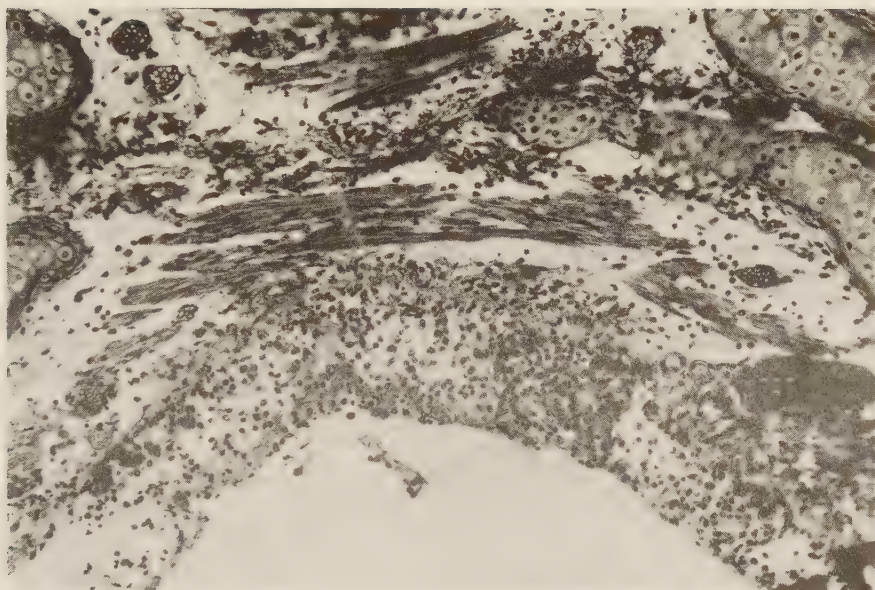


Bronche souche (faible grossissement).

L'atteinte par l'Acroléine a du être très sévère puisque l'épithélium a presque entièrement desquamé.

Il faut noter que le bouchon muqueux infiltré qui, précédemment, encombrait la lumière, n'existe pas ici.

L'infiltrat inflammatoire et l'œdème de la muqueuse ont, par contre, considérablement diminué (comparer avec les figures 1 et 2).



Même préparation que la fig. n° 6.

Fort grossissement d'une zone gravement atteinte dont l'épithélium avait totalement disparu.

L'administration de fusafungine n'a évidemment pas permis, dans le court laps de temps séparant la fin du traitement du sacrifice, une restitution de cet épithélium.

Le tissu conjonctif est cependant redevenu presque normal avec une diminution considérable de l'œdème.

Fig. n° 8

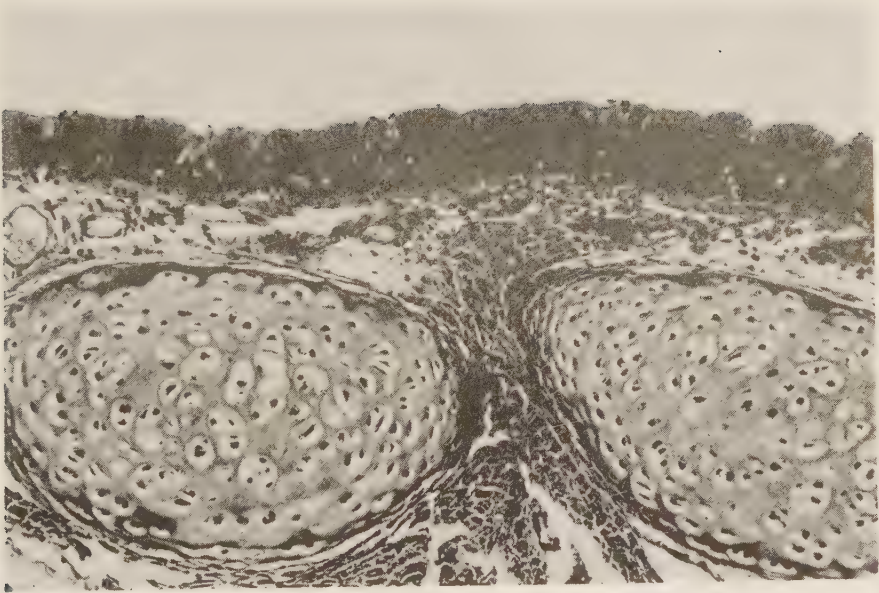
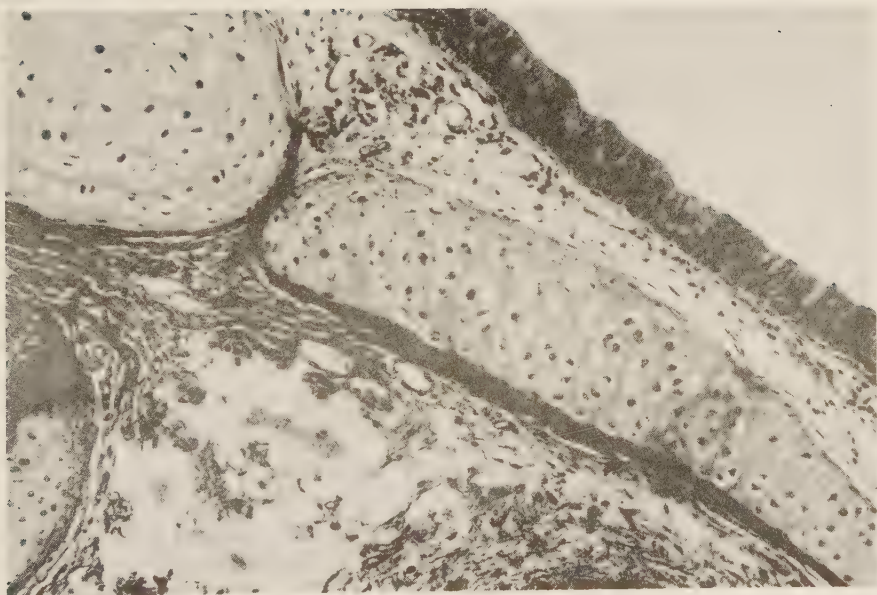


Fig. n° 9



Les figures n° 8 et n° 9 montrent le même aspect. Il s'agit de régions dans lesquelles l'épithélium n'avait pas desquamé, mais où l'infiltrat inflammatoire, sous fusafungine, a pratiquement disparu.

Le chorion, quoique légèrement œdématié sur la figure n° 9, peut être considéré comme normal dans les deux cas.

Ces deux figures montrent une reconstruction totale de la structure trachéale. La figure n° 8 pourrait d'ailleurs être prise pour une image de témoin absolu, s'il ne persistait pas dans le chorion quelques petits groupes de cellules inflammatoires.

Conclusion :

Deux possibilités s'imposent à notre observation : ou l'on se trouve devant une inflammation très délabrante et la fusafungine n'exerce, dans ce cas, qu'une action normalisatrice sur le conjonctif, mais de façon très nette ; ou l'on se trouve devant une inflammation typique, banale et la fusafungine reconstruit en totalité la structure normale de la trachée.

d) Effet préventif

Dans un troisième temps nous avons voulu rechercher la possibilité d'un effet préventif de la fusafungine sur les animaux de référence.

Conditions d'expérience

Matériel, le même que précédemment.

Aérosol : « 314 S » principe actif fusafungine

Acroléine c = 0,025 %

t = 15 minutes

Animaux : cobayes

Protocole d'expérience

Pour cela nous avons complété notre expérience antérieure en prenant :

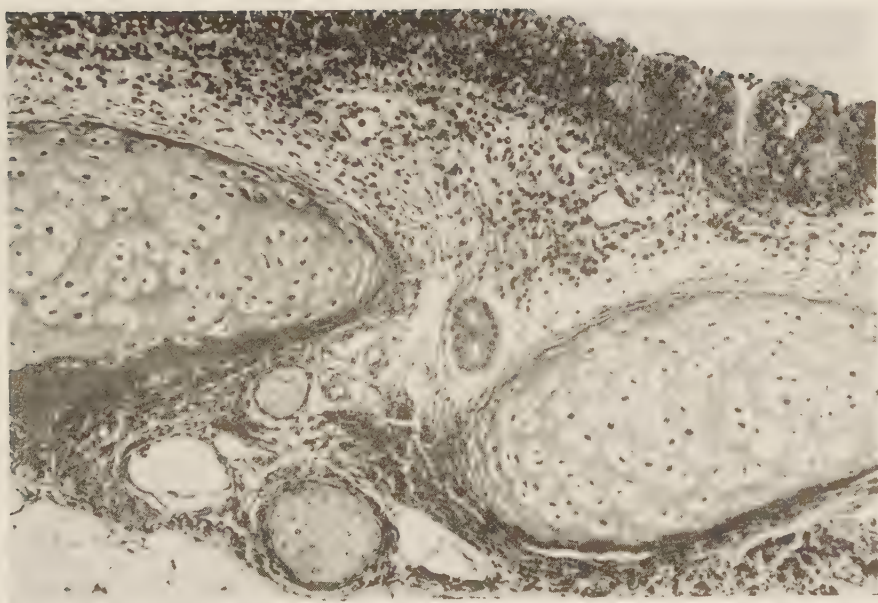
Un lot D de 4 cobayes identiques aux précédents que l'on soumet à un aérosol de « 314 S » pendant un temps t = 15 minutes puis à un aérosol toxique d'Acroléine. Les animaux furent sacrifiés au bout de 2 heures après le dernier aérosol. Les pièces prélevées subirent la même préparation histologique que précédemment.

Résultats

Lot D : Animaux ayant reçu :

- 1) – Aérosol fusafungine
- 2) – Aérosol d'Acroléine

Fig. n° 10



Il existe une infiltration inflammatoire tant au niveau de l'épithélium qu'à celui du chorion ; cette inflammation est beaucoup moins importante que chez l'animal de référence. Elle est cependant plus perceptible que chez l'animal secondairement traité par la Fusafungine.

Le chorion par contre, ne présente ni congestion ni œdème.

e) Conclusion sur l'activité anti-inflammatoire de la fusafungine

L'aérosol toxique d'Acroléïne crée une lésion inflammatoire vraie et pure avec des phénomènes de congestion, d'œdème et d'infiltration leucocytaire.

L'infiltration leucocytaire intéresse également l'épithélium ; et, dans bien des cas, celui-ci peut desquamier totalement laissant la lame basale à nu.

A titre préventif, la Fusafungine diminue la congestion et l'œdème mais influence de façon moins nette l'infiltration.

A titre curatif, il existe également une diminution de la congestion et de l'œdème du conjonctif mais deux cas sont à distinguer :

- ou l'épithélium a desquamé et la basale est à nu et le conjonctif reste réactionnel mais de façon discrète ;
- ou l'épithélium reste intact malgré l'inflammation sous jacente et dans ce cas la fusafungine entraîne une restitution « ad integrum ».

Cela a d'autant plus de valeur que, d'une part dans les affections cliniques, qui sont appelées à être traitées par la Fusafungine, l'inflammation ne va jamais jusqu'à la mise à nu de la basale, et sont donc des affections du deuxième type, et que d'autre part les expériences, compte tenu du caractère transitoire de l'inflammation due à l'Acroléïne, ont été réalisées avec une seule séance de Fusafungine, tandis qu'en clinique l'on peut répéter celles-ci jusqu'à la guérison totale.

IV — CONCLUSION

En conclusion de ce travail, nous pouvons confirmer l'intérêt que présente l'examen histologique dans l'appréciation d'un effet anti-inflammatoire.

Partant de tests qui, bien que classiques, s'étaient révélés peu concluants puisqu'en contradiction avec des résultats cliniques, nous avons pu, grâce à l'histologie, apporter des précisions sur l'activité inflammatoire.

La supériorité de l'étude histologique tient en particulier à ce qu'elle permet de déterminer avec précision l'évolution de chacun des facteurs qui jouent un rôle dans l'inflammation : **congestion**, **œdème**, et **infiltration leucocytaire**. Chacun de ces facteurs est d'ailleurs influencé semble-t-il par la thérapeutique administrée.

En définitive, la corrélation entre résultats cliniques et histologie s'avère très satisfaisante, ce qui n'a pas été le cas pour les autres tests. La possibilité d'archiver des documents photographiques permettant des confrontations ultérieures, est un autre avantage non négligeable de l'investigation histologique.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ARDOUIN (P.) - Progres Medical (Janv. 1966) 94 - p. 29-31.
- 2 - BAGOT (P.) GUERIN (C.) - Sem. des Hôp. (Oct. 1963) n° 47 - p. 2239 - 2242.
- 3 - BALEA (T.) - Rapp. Expertise Pharmacol. Toxicol. - p. 15-16-21 - (1962).
- 4 - BOVIN (A.) coll. - Cr. Soc. Biol.)1953) - 114-307.
- 5 - BUTTLE (C.A.H.) D'ARCY (O.B.F.) HOWARD (E.M.) KELLET (D.N.) - Nature 179 - 629 - (1957).
- 6 - [COOK, COX, FARNER] cités par T. BALEA - Nature London 1946 - 157 - p. 333
1947 - 160 - p. 31.
- 7 - COSTE (F.) DELBARRE (F.) BASSET-LACRONIQUE (F.) - Sem. des Hôp. - (1955) - 31 - 2708.
- 8 - DAHGREN (S.) DAHL MAMN (T.) - Act. Pharmacol. Toxicol. (1966) - 24 - 286.
- 9 - DU BOISTESSELIN R. - Gaz Male de France - 25 Fév. 1969 - n° 6 - (Suppl. 28-31).
- 10 - DYAR (M.T.) - Journal of Bactér. - (1947) - 53 - p. 498.
- 11 - EDUARDO MARTIN (J.) - Medizinsche klinik (Mayo 1969) - 91 - 110-113.
- 12 - GINSBERG (H.) - J. of immun. - (1955) - 75 - 430.
- 13 - GROUPE (U.R.) et Coll. - J. of Bacter. - (1956) - 72 - p. 604.
- 14 - HALPERN (B.N.) BRIOT (N.) - Arch. Int. de Pharmacodynamie - 1952 - 91 - 192.
- 15 - HEMANN (E.G.) ENGLE (J.C.) PEARLMANN (P.L.) - Americ. J. of Physiol. - 1959 - 197 - 803.
- 16 - HINKY (I.) - Gaz Male de France - (1944) - 61 - p. 619.
- 17 - MASSON (H.) - Gaz Male de France (Nov. 1963) - n° 22 - Act. Théra. (Nov. 1961) - p: 464.
- 18 - HEIER (R.) SCHULER (W.) DESAULLES (P.) - Experientia - 6 - 400 - (1950).
- 19 - PIAGET (F.) GROS (J.C.) - Cahiers Méd. Lyonnais - (Mars 1967) - 43 - p. 639-642.
- 20 - PORTMANN (M.) - Vie Médicale - (Déc. 1964) - p. 44-61.
- 21 - SCHMITT (H.) - Rapp. expr. Pharmacol. sur la Fusa (1962).
- 22 - SELYE (H.) HORAVA (A.) - Second Annual Report on Stress - Montréal (1952).
- 23 - VALKO (E.I.) DUBOIS (A.S.) - J. of Bacter. - (1944) - 47 - 45
Ann. N.Y. Acad. Scient.)1946) - 46 - 451.
- 24 - WINTER (CH. A.) FLATAKER (L.) - J. of Pharmacol. Exp. Ther. (1954) - 112 - 99-108.

**Vu le Président de Thèse :
Pr. J. RACADOT**

**Vu le Doyen de la Faculté
de Médecine Pitié-Salpêtrière :
Pr. CASTAIGNE**

**Vu et Permis d'imprimer :
le Recteur de l'Académie de Paris
R. MALLET**

